

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Washington D.C. 20231
United States of America

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 12 janvier 1996 (12.01.96)	
Demande internationale no PCT/FR95/00512	Référence du dossier du déposant ou du mandataire B2453A-EG
Date du dépôt international (jour/mois/année) 19 avril 1995 (19.04.95)	Date de priorité (jour/mois/année) 19 avril 1994 (19.04.94)
Déposant LOCHT, Camille etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

☒ dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

16 novembre 1995 (16.11.95)

☐ dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection ☒ a été faite

☐ n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

Ellen Moyse

no de téléphone: (41-22) 730.91.11

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION CONCERNANT LA
TRANSMISSION DE DOCUMENTS

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année)

18 octobre 1996 (18.10.96)

Demande internationale no

PCT/FR95/00512

Date du dépôt international

19 avril 1995 (19.04.95)

Déposant

INSTITUT PASTEUR etc

Le Bureau international transmet ci-joint le nombre de copies indiqué ci-après des documents suivants:

_____ copie de la traduction en langue anglaise du rapport d'examen préliminaire international (article 36.3a))

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

P. Asseeff

no de téléphone: (41-22) 730.91.11

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

COMMUNICATION OF
INTERNATIONAL APPLICATIONS

(PCT Article 20)

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Washington D.C. 20231
United States of America

Date of mailing:

11 January 1996 (11.01.96)

in its capacity as designated Office

The International Bureau transmits herewith copies of the international applications having the following international application numbers and international publication numbers:

International application no.:

PCT/FR95/00512

International publication no.:

WO95/28486

**CORRECTED VERSION
VERSION CORRIGEE**

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 730.91.11

TRANSLATION INTERNATIONAL COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference B2453A-EG	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div>FOR FURTHER ACTION</div> <div>See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)</div> </div>	
International application No. PCT/FR95/00512	International filing date (day/month/year) 19.04.1995	Priority date (day/month/year) 19.04.1994
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N15/31		
Applicant INSTITUT PASTEUR et al.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16.11.1995	Date of completion of this report 06.08.96
Name and mailing address of the IPEA/ EP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description. pages _____, as originally filed.
pages _____, filed with the demand.
pages _____, filed with the letter of _____.
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the claims. Nos. _____, as originally filed.
Nos. _____, as amended under Article 19.
Nos. _____, filed with the demand.
Nos. _____, filed with the letter of _____.
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the drawings. sheets/fig _____, as originally filed.
sheets/fig _____, filed with the demand.
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description. pages _____
- ☐ the claims. Nos. _____
- ☐ the drawings. sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	<u>3, 5, 15, 16, 21, 22, 25, 26, 28</u>	YES
	Claims	<u>1, 2, 4, 6-14, 17-20, 23, 24, 27, 29</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims	_____	YES
	Claims	<u>1-29</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	<u>1-29</u>	YES
	Claims	_____	NO

2. Citations and explanations

- 1). The present application relates to a recombinant DNA coding for fusion proteins, in which the N-terminal region may be either the mature protein of filamentous haemagglutinin (FHA) of *Bordetella* (B.) or a truncated version of this mature protein; the C-terminal region of said fusion protein is a heterologous polypeptide.

The above-mentioned truncated FHA (N-terminal part of the fusion protein) exhibits the following features:

- the interaction site of FHA with heparin, which is formed of the residues 441-863 (see description, pages 21-22 and **D1** [INFECTION AND IMMUNITY, MARCH 1994, Vol.62, pages 769-778]);
- the maturation site of FHA, which is located in the region of amino acid 1800 (**D2** [Molecular Microbiology, 1993, Vol.9, pages 653-660]; see Figure 1);
- the N-terminal regions homologous to the N-terminal regions of the haemolysins Sh1A and HpnA of *Serratia marcescens* and *Proteus mirabilis*, which are coded by the bases 523-857 (**D3** [Infection and Immunity, 1990, Vol.58, pages 2895-2905]; see Figure 2);

- the region coding for its excretion signals [bases 253 to 465] (D3, page 2896 and Figure 2);
- a site for attachment of FHA to the mucous membranes, which is apparently located in the repeat regions A and B (A repeat, B repeat), said site being an attachment site of carbon-containing hydrates (D2, Figure 1 and page 656).

2. Document **D5** (JOURNAL OF BACTERIOLOGY, 1989, Vol.171, pages 6345-6348) represents the closest prior art.

D5 discloses a recombinant DNA (clone lambdaJMC3, Figure 1,A) which contains the fragment EcoRI-BamHI of 2.84 kb; this fragment codes for the N-terminal part of FHA and contains about 250 pairs of bases of the non-coding 5' region (D5, page 6346).

LambdaJMC contains a sequence (1) which codes for a heterologous polypeptide (beta-galactosidase) in respect of an FHA of *Bordetella* fused within the same reading frame to a sequence (2) located upstream from the first sequence, said sequence (2) coding for a part of FHA of *B.pertussis*; said part containing at least the N-terminal region of the truncated mature protein of FHA which contains the interaction site of FHA with heparin and which has the excretion signals of FHA. The sequence (2) results from a truncation on the side of its C-terminal end of the sequence coding for mature FHA. This sequence (2) contains the N-terminal region homologous to the N-terminal regions of the haemolysin Shla and Hpna of *Serratia marcescens* and *Proteus mirabilis*. Furthermore, the sequence (2) contains at least one specific attachment site for FHA to the mucous membranes (for example the site of attachment to heparin, which serves as a mediator for

the attachment of FHA to the epithelial cells (mucous membranes) (D1).

The above-mentioned DNA also contains a promoter recognized by the polymerases of *B.pertussis*. Finally, cultures of prokaryotic cells (*E.coli*) and of recombinant proteins, formed of the product of said recombinant DNA, are described in D5.

Having regard to the above remarks, D5 destroys the novelty of Claims 1, 2, 4, 6-14, 17-20, 23, 24, 27 and 29, and consequently these claims do not comply with the requirements of PCT Article 33 (2).

- 3). The prior art discloses methods for inserting plasmids in *B.pertussis*, either by conjugation (D6: JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Vol. 170, pages 2904-2913, 1988), or by electroporation (D7: EP-A-0 453 216).

D6 describes the insertion of recombinant plasmids in strain BP338 of *B.pertussis*, which is a parental strain and is, as a consequence, necessarily a carrier of a gene *fhaC* which can be expressed in these cells.

Having regard to the closest prior art (document D5), it is normal routine practice for a person skilled in the art, who has, moreover, a knowledge of D6 to D7, to insert the above-mentioned DNA, which also contains a promoter recognized by the polymerases of *B.pertussis*, in a strain of *B.pertussis*, which carries a gene *fhaC* that can be expressed in these cells.

Consequently, this measure does not involve an inventive step, since it is ultimately a simple question of technical convenience.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT PCT/FR95/00512

Claims 15 and 16 do not, therefore, comply with the requirements of PCT Article 33 (3).

- 4). Claims 3, 5, 21, 22, 25, 26 and 28 do not appear to contain any additional feature which, in combination with any one of the claims, would involve an inventive step.

Consequently, these claims do not comply with the requirements of PCT Article 33 (3).

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The subject matter of the claims should be characterized by genuine technical features and not by functional features (PCT Article 6 and PCT Rule 6.3).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 95/00512

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/31 C12N15/62 C07K14/235 C12N1/21
//(C12N1/21,C12R1:01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X —	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 171, no. 11, 1989 pages 6345-6348, MILLER J. F. ET AL. 'Analysis of Bordetella pertussis virulence gene regulation by use of transcriptional fusions in Escherichia coli'	1,2,4,6, 7,10-14, 17-20, 22,23,26
Y	see the whole document --- -/--	3,5,8,9, 15,16, 21,24, 25,27,28

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date :
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 November 1995

Date of mailing of the international search report

30. 11. 95

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Espen, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 95/00512

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y —	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 174, no. 3, 1992 pages 970-979, MILLER J. F. ET AL. 'Constitutive sensory transduction mutations in the Bordetella pertussis bvgS gene' see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
Y	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 173, no. 7, 1991 pages 2385-2392, ROY C.R. ET AL. 'Identification of Bordetella pertussis regulatory sequences required for transcriptional activation of the fhaB gene and autoregulation of the bvgAS operon' see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
Y —	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 58, no. 9, 1990 WASHINGTON US, pages 2895-2905, DELISSE-GATHOYE A.-M. ET AL. 'Cloning, partial sequence, expression, and antigenic analysis of the filamentous hemagglutinin gene of Bordetella pertussis' cited in the application see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
Y —	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 62, no. 3, March 1994 WASHINGTON US, pages 769-778, MENOZZI F. D. ET AL. 'Heparin-inhibitable lectin activity of the filamentous hemagglutinin adhesin of Bordetella pertussis' cited in the application ---	1-10, 12-19, 21-28
Y —	MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol. 11, no. 2, January 1994 pages 337-347, WILLEMS R. J. L. ET AL. 'Mutational analysis of the Bordetella pertussis fim/fha gene cluster: identification of a gene with sequence similarities to haemolysin accessory genes involved in export of FHA' cited in the application see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y —	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 170, no. 7, 1988 pages 2904-2913, STIBITZ S. ET AL. 'Genetic analysis of a region of the Bordetella pertussis chromosome encoding filamentous hemagglutinin and the pleiotropic regulatory locus vir' cited in the application see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
Y —	EP,A,0 453 216 (CONNAUGHT LABORATORIES LIMITED) 23 October 1991 see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
Y —	WO,A,92 18624 (GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGY) 29 October 1992 see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
Y —	MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol. 4, no. 5, 1990 pages 787-800, DOMENIGHINI M. ET AL. 'Genetic characterization of Bordetella pertussis filamentous haemagglutinin: a protein processed from an unusually large precursor' see the whole document ---	1-10, 12-19, 21-28
A —	MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol. 9, no. 4, 1993 pages 653-660, LOCHT C. ET AL. 'The filamentous haemagglutinin, a multifaceted adhesin produced by virulent Bordetella spp.' cited in the application see the whole document -----	

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 498310
FR 9404661

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol.171, no.11, 1989 pages 6345 - 6348 MILLER J. F. ET AL. 'Analysis of Bordetella pertussis virulence gene regulation by use of transcriptional fusions in Escherichia coli'	1,2,4,6, 7,10-14, 18,19, 22,23,26
Y		3,5,8,9, 15-17, 21,24, 25,27,28
Y	* le document en entier * --- JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol.174, no.3, 1992 pages 970 - 979 MILLER J. F. ET AL. 'Constitutive sensory transduction mutations in the Bordetella pertussis bvgS gene' * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
Y	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol.173, no.7, 1991 pages 2385 - 2392 ROY C.R. ET AL. 'Identification of Bordetella pertussis regulatory sequences required for transcriptional activation of the fhaB gene and autoregulation of the bvgAS operon' * le document en entier * --- -/--	1-10, 12-19, 21-28
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		C07K C12N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
18 Janvier 1995		Espen, J
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

EPO FORM 1503 Q1.82 (P04C13)

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 498310
FR 9404661

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
D,Y	INFECTION AND IMMUNITY, vol.58, no.9, 1990, WASHINGTON US pages 2895 - 2905 DELISSE-GATHOYE A.-M. ET AL. 'Cloning, partial sequence, expression, and antigenic analysis of the filamentous hemagglutinin gene of Bordetella pertussis' * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
D,Y	INFECTION AND IMMUNITY, vol.62, no.3, Mars 1994, WASHINGTON US pages 769 - 778 MENOZZI F. D. ET AL. 'Heparin-inhibitable lectin activity of the filamentous hemagglutinin adhesin of Bordetella pertussis'	1-10, 12-19, 21-28
D,Y	MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol.11, no.2, Janvier 1994 pages 337 - 347 WILLEMS R. J. L. ET AL. 'Mutational analysis of the Bordetella pertussis fim/fha gene cluster: identification of a gene with sequence similarities to haemolysin accessory genes involved in export of FHA' * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
D,Y	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol.170, no.7, 1988 pages 2904 - 2913 STIBITZ S. ET AL. 'Genetic analysis of a region of the Bordetella pertussis chromosome encoding filamentous hemagglutinin and the pleiotropic regulatory locus vir' * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
18 Janvier 1995		Espen, J
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons</p> <p>& : membre de la même famille, document correspondant</p>		

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la rechercheN° d'enregistrement
nationalFA 498310
FR 9404661

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
Y	EP-A-0 453 216 (CONNAUGHT LABORATORIES LIMITED) 23 Octobre 1991 * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
Y	WO-A-92 18624 (GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGY) 29 Octobre 1992 * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
Y	MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol.4, no.5, 1990 pages 787 - 800 DOMENIGHINI M. ET AL. 'Genetic characterization of Bordetella pertussis filamentous haemagglutinin: a protein processed from an unusually large precursor' * le document en entier *	1-10, 12-19, 21-28
D,A	MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol.9, no.4, 1993 pages 653 - 660 LOCHT C. ET AL. 'The filamentous haemagglutinin, a multifaceted adhesin produced by virulent Bordetella spp.' * le document en entier *	
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
18 Janvier 1995		Espen, J
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference B2453A-EG	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR 95/ 00512	International filing date (day/month/year) 19/04/1995	Priority date (day/month/year) 19/04/1994
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N15/31		
Applicant INSTITUT PASTEUR et al.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.


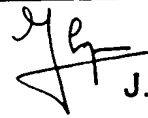
2. This **REPORT** consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consists of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications and corresponding pages relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16/11/1995	Date of completion of this report 06.08.96
Name and mailing address of the IPEA  European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Netherlands Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3018	Authorized officer  J. Espen Telephone No. +31(70) 340-2625

I. Base du rapport

1. Le présent rapport a été rédigé sur la base *(Les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans la présente opinion, comme "initialement déposées".)* :

☒ la demande internationale telle qu'initialement déposée

☐ la description, pages

, telles qu'initialement déposées

pages

, déposées avec la demande d'examen préliminaire internationale

pages

, déposées sous couvert d'une lettre du

☐ les revendications n^{os}

, telles qu'initialement déposées

n^{os}

, telles que modifiées en vertu de l'article 19

n^{os}

, déposées avec la demande d'examen préliminaire internationale

n^{os}

, déposées sous couvert d'une lettre du

☐ les dessins, feuilles / fig.

, telles qu'initialement déposées

feuilles / fig.

, déposées avec la demande d'examen préliminaire internationale

feuilles / fig.

, déposées sous couvert d'une lettre du

2. Les modifications ont entraîné l'annulation

☐ de la description, pages

☐ des revendications, n^{os}

☐ des dessins, feuilles / fig.

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué dans le cadre supplémentaire (Règle 70.2 c)).

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

V. Déclaration motivée selon l'article 35.2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle ; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Revendications	3,5,15,16,21,22,25,26,28	OUI
	Revendications	1,2,4,6-14,17-20,23,24,27,29	NON
Activité inventive	Revendications		OUI
	Revendications	1-29	NON
Possibilité d'application industrielle	Revendications	1-29	OUI
	Revendications		NON

2. Citations et Explications

1). La présente demande a trait à un ADN recombinant qui code pour des protéines de fusion dont la région N-terminale peut être soit la protéine mature de l' hémagglutinine filamenteuse (FHA) de *Bordetella* (B.) soit une version tronquée de cette protéine mature; la région C-terminale de cette protéine de fusion est un polypeptide hétérologue.

La FHA tronquée (partie N-terminale de la protéine de fusion) mentionnée ci-dessus comporte les caractéristiques suivantes:

-le site d' interaction de la FHA avec l' héparine qui est constitué par les résidus 441-863 (description p. 21-22 et **D1** [INFECTION AND IMMUNITY, Mar. 1994, Vol 62, pp. 769-778]);

-le site de maturation de la FHA, qui se trouve dans les environs de l' acide aminé 1800 (**D2** [Molecular Microbiology, 1993, Vol. 9, pp. 653-660]; voir Fig. 1);

-les régions N-terminales homologues aux régions N-terminales des hémolysines Sh1A et HpnA de *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*, qui sont codées par les bases 523-857 (**D3** [Infection and Immunity, 1990, Vol. 58, pp. 2895-2905]; voir Fig. 2);

-la région codant pour ses signaux d' excrétion [bases 253 à 465] (**D3**, p. 2896 et Fig. 2);

-un site d' attachement de la FHA aux muqueuses qui est apparemment localisé dans les régions répétitives A et B (A repeat, B repeat, ce site étant un site d' attachement aux hydrates carbonés (D2, Fig. 1 et p. 656).

2). Le document **D5** (JOURNAL OF BACTERIOLOGY, 1989, Vol. 171, p. 6345-6348) représente l'art antérieur le plus proche.

D5 divulgue un ADN recombinant (clone lambdaJMC3, Fig. 1,A) qui contient le fragment EcoRI-BamHI de 2,84 kb, ce fragment code pour la partie N-terminale de la FHA et comporte environ 250 paires de bases de la région 5' non-codant (D5, p. 6346).

LambdaJMC contient une séquence (1) qui code pour un polypeptide hétérologue (beta-galactosidase) vis-à-vis d'une FHA de *Bordetella* fusionnée dans le même cadre de lecture à une séquence (2) placée en amont de la première, cette séquence (2) codant pour une partie de la FHA de *B. pertussis*, cette partie comporte au moins la région N-terminale de la protéine mature tronquée de la FHA qui contient le site d'interaction de la FHA avec l'héparine et qui possède les signaux d'excrétion de la FHA. La séquence (2) résulte d'une troncature du côté de son extrémité C-terminale de la séquence codant pour la FHA mature. Cette séquence (2) comporte la région N-terminale homologue aux régions N-terminales des hémolysine Sh1a et HpnA de *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*. De plus, la séquence (2) contient au moins un site spécifique d'attachement de la FHA aux muqueuses (par exemple le site d'attachement à l'héparine qui sert de médiateur pour l'attachement de la FHA aux cellules épithéliales (muqueuses) (D1).

Le susdit ADN contient aussi un promoteur reconnu par les polymérases de *B. pertussis*. Enfin, des cultures de cellules procaryotes (*E. coli*) et des protéines recombinantes, constituées par le produit du susdit ADN recombinant, sont décrites en D5.

Au vu des mentions faites ci-dessus, D5 détruit la nouveauté des revendications 1,2,4,6-14,17-20,23,24,27 et 29, et par conséquent ces revendications ne remplissent pas les conditions énoncées à l'Art. 33 (2) PCT.

3). L'art antérieur divulgue des méthodes permettant l'introduction des plasmides dans *B. pertussis*, soit par conjugaison (D6: JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Vol. 170, pp. 2904-2913, 1988), soit par électroporation (D7: EP-A-0 453 216).

D6 décrit l'introduction des plasmides recombinants dans la souche BP338 de *B. pertussis*, qui est une souche parentale et qui est, par conséquent, nécessairement porteuse d'un gène fhaC exprimable dans ces cellules.

Au vu de l'art antérieur le plus proche (document D5), il ne sort pas du cadre normal des activités de la personne du métier qui a, de plus, connaissance de D6 et D7, d'introduire le susdit ADN, qui contient aussi un promoteur reconnu par les polymérases de *B. pertussis*, dans une souche de *B. pertussis*, porteuse d'un gène fhaC exprimable dans ces cellules.

En conséquence, cette démarche n'implique aucune activité inventive, puisqu'il s'agissait au total d'une simple question de commodité technique.

Donc, les revendications 15 et 16 ne répondent pas au critère figurant à l' article 33 (3) PCT.

4). Les revendications 3,5,21,22,25,26,28 ne semblent pas contenir de caractéristique supplémentaire qui, en combinaison avec l'objet de l'une quelconque des revendications , impliquerait une activité inventive.

Par conséquent, ces revendications ne remplissent pas les conditions énoncées dans l' art. 33 (3) PCT.

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

L'objet des revendications doit être caractérisé par des vraies caractéristiques techniques et non par des caractéristiques fonctionnelles (Art. 6 et Règle 6.3, PCT).